

ISPITIVANJE BIOLOŠKOG UTJECAJA TROMBA NA FIZIFORMNU ANEURIZMU

Virag, L., Righi, B., Horvat, N. & Karšaj, I.

Sažetak: Aneurizma abdominalne aorte (AAA) je lokalizirano proširenje aorte uslijed razgradnje izvastanične matrice. Većina AAA sadrži intraluminalni tromb (ILT). Biokemijska i mehanička svojstva tromba utječu na rast i restrukturiranje (growth and remodeling, G&R) aneurizme. Intraluminalni tromb povećava razgradnju stijenke aorte, tako smanjujući njezinu čvrstoću. U dosadašnjim istraživanjima smo razvili prvi model nastanka, rasta i starenja intraluminalnog tromba temeljen na eksperimentalnim rezultatima iz literature. Pomoću tog modela smo na 1D geometriji pokazali da tromb znatno utječe biokemijski i biomehanički na razvoj i način rasta aneurizme abdominalne aorte, te ga je potrebno uzeti u obzir pri modeliranju rasta aneurizme. Cilj ovog istraživanja je proširiti razvijene teoretske G&R modele stijenke i tromba sa cilindrične na realnu 3D geometriju te provjeriti hipoteze dobivene 1D analizama. Za to je potrebna implementacija teorije rasta i restrukturiranja stijenke u konačne elemente u programski paket FEAP te povezivanje s MATLAB-om radi računanja povećane raspodijele proteaza (enzima koji razgrađuju proteine u stijenci aorte), uslijed prisutnosti tromba. U prvoj iteraciji je ispitivan samo biokemijski utjecaj tromba, dok je mehanički dio zanemaren. Modelirana je fuziformna (osnosimetrična) aneurizma, u nadi da će to pomoći boljem razumijevanju patofiziologije aneurizmi.

Ključne riječi: aneurizma abdominalne aorte, intraluminalni tromb, rast i restrukturiranje, metoda konačnih elemenata.

1 UVOD

Aneurizma abdominalne aorte (AAA) je lokalno proširenje krvne žile uslijed razgradnje elastina u stijenci aorte, a obično se definira kao infrarenalna aorta s promjerom većim od 30 mm. Aneurizma raste tijekom nekoliko desetaka godina, ali do rupture dolazi naglo i bez upozorenja kada naprezanje u stijenci aorte nadvisi njezinu čvrstoću. U većini AAA dolazi do stvaranja intraluminalnog tromba (ILT). Smatra se da tromb služi kao mehanička zaštita od prevelikih naprezanja, ali upalne stanice u dijelu tromba uz lumen (luminalni sloj) izlučuju proteolitičke enzime koji razgrađuju stijenku aorte i čine ju podložnom daljnjem razvoju aneurizme. Liječenje AAA se svodi na operativni zahvat koji se preporuča pacijentima s aneurizmom koja ima maksimalni promjer veći od 5-5,5 cm (ili po iskustvu liječnika). Istraživanja su pokazala da, iako je rizik od rupture zasigurno povezan s maksimalnim promjerom, korištenje samo tog pokazatelja za odlučivanje o odlasku na operaciju ne samo da može dovesti do nepotrebnih operativnih zahvata u slučaju stabilnih velikih aneurizmi, nego može isključiti neke potrebne (aneurizme promjera manjeg od 5 cm kod kojih je došlo do rupture). Studije su pokazale da u 10-24% slučajeva aneurizme manje od 5 cm dožive rupturu, ali i da 25-54% aneurizmi većih od 7,1 cm ne rupturira, [1]. Također, prema kliničkom iskustvu, do rupture najčešće dolazi upravo na mjestu

najvećeg tromba. Prema tome, ILT ima značajan utjecaj na rast i razvoj AAA i ne smije ga se zanemariti tijekom modeliranja rasta AAA.

2 METODOLOGIJA

Biokemomehanički model rasta i restrukturiranja aneurizme koja sadrži tromb se sastoji od modela stijenke i modela intraluminalnog tromba, koji su međusobno povezani. Model stijenke implementiran je u programski paket za konačne elemente FEAP (*Finite Element Analysis Program*), dok je za model tromba korišten programski paket MATLAB. Ta dva programa međusobno su povezana preko programskog paketa Matfeap.

2.1 Model rasta i restrukturiranja stijenke aorte

Stijenka aorte se sastoji od tri sloja, a svaki od slojeva ima različiti udio strukturalno bitnih dijelova koji daju krutost stijenci: kolagena, elastina i glatkih mišićnih stanica. Model rasta i restrukturiranja (engl. *growth and remodeling*, G&R) aorte se temelji na osnovnoj pretpostavci da se elastin, kolagena vlakna i mišićne stanice unutar smjese zajedno deformiraju (engl. *continuum-based constrained mixture theory*); pristup prezentiran u [6], na temelju kojeg je razvijen matematički model za modeliranje adaptacije zdrave aorte ([8] i [9]). Masa svakog konstituenta se mijenja u vremenu, ovisno o brzini stvaranja/uklanjanja mase strukturalno bitnog dijela \dot{m}^k i funkciji uklanjanja (engl. *survival function*) q^k , prema [6]. Anizotropno, Cauchyjevo naprezanje aorte opisuje se kao:

$$\mathbf{t} = \frac{2}{\det(\mathbf{F})} \mathbf{F} \frac{\partial W}{\partial \mathbf{C}} \mathbf{F}^T + t^{\text{active}} \mathbf{e}_\theta \otimes \mathbf{e}_\theta, \quad (11)$$

gdje je \mathbf{F} gradijent deformiranja koji povezuje trenutnu konfiguraciju i konfiguraciju neopterećene smjese, \mathbf{C} je desni Cauchy-Greenov tenzor, t^{active} je kontraktibilnost mišićnih stanica u cirkularnom smjeru, a W funkcija energije deformiranja izračunata preko pravila smjese kao $W = \sum_k W^k$. U taj izraz su maseni udjeli pojedinog

strukturalnog dijela k uračunati u W^k , kao u [9]:

$$W^k(s) = \frac{M^k(0)}{\sum_k M^k(s)} \hat{W}^k(\mathbf{C}_{n(0)}^k(s)) Q^k(s) + \int_0^s \frac{\dot{m}^k(\tau)}{\sum_k M^k(s)} \hat{W}^k(\mathbf{C}_{n(\tau)}^k(s)) q^k(s-\tau) d\tau. \quad (12)$$

U jednadžbi (12) M^k označava masu konstituenta k , \hat{W}^k funkciju specifične energije deformiranja za svaki strukturalno bitni dio, dok je $Q^k(s) = q^k(s-0)$. Elastin je modeliran s neo-Hookeovom funkcijom specifične energije, dok su vlakna opisana eksponencijalnom funkcijom.

Model je implementiran u paket za konačne elemente FEAP, pri čemu se nestlačivost osigurava kaznenom funkcijom *Augmented Lagrange*, a korištena je mješovita formulacija, kao što je predloženo u [2, 11].

2.2 Model formacije tromba

U 80% AAA dolazi do oštećenja endotelne stanice, zbog čega krv dolazi u dodir s kolagenom i stvara se intraluminalni tromb (ILT), [12, 14]. Ovisno o veličini i starosti, tromb također može imati do tri biomehanički različita sloja, pri čemu je luminalni sloj (sloj uz lumen, odnosno strujanje krvi) proteolitički najaktivniji. Slojeve tromba čine različiti udjeli fibrina, crvenih krvnih stanica, produkti razgradnje fibrina i praznine (kanalići).

Do sada razvijeni modeli za opisivanje nastanka i rasta tromba se odnose samo na privremene krvne ugruške drugačijih svojstava i svrhe od ILT-a. Ti modeli se ne bave utjecajem ugruška na krvnu žilu, nego isključivo zgrušnjavanjem krvi (tj. stvaranjem fibrina, fibrinogenezom) te razgradnjom fibrina pomoću plazmina (fibrinolizom). Iz tog razloga smo razvili novi matematički model temeljen na eksperimentalnim rezultatima, čiji se pregled može naći u [13]. Model opisuje nastanak i rast intraluminalnog tromba, kao i razvoj njegovih mehaničkih svojstava uz osnovnu pretpostavku da se luminalni promjer ne mijenja pri konstantnom opterećenju.

Iako je pokazano da tromb na stijenku ima mehanički utjecaj [7], ovaj rad ga zanemaruje i fokusira se na biokemijski utjecaj tromba. U luminalnom sloju se nalaze upalne stanice iz krvi (npr. T-limfociti), dok ostala dva sloja sadrže mnogo manje stanica i molekula. Upalne stanice u luminalnom sloju izlučuju proteolitičke enzime, matriks metaloproteaze u latentnom obliku (proMMP). Nakon aktivacije plazminom ti enzimi razgrađuju kolagen i elastin, što stijenku čini slabijom i podložnom razvoju aneurizme. Osim u luminalnom sloju, upalne stanice se nalaze i u mediji i adventiciji. Naime, aorta je najveća krvna žila u ljudskom tijelu, te se dijelovi zdrave aorte koji najviše udaljeni od lumena opskrbljuju kisikom pomoću mreže kapilara koje se zovu *vasa vasorum*. U slučaju aneurizme se površina *vase vasorum* višestruko povećava, što uz povećani dotok kisika za posljedicu ima i povećani broj upalnih stanica koje proizvode proMMP [4, 10]. To znači da difuzija proteaza i kisika nije jednosmjerna, već ima dva izvora (dio tromba najbliži lumen i dio stijenke najudaljeniji od njega), a njihova važnost se mijenja tijekom vremena. Prema tome, da bi se modelirao biokemijski utjecaj tromba, potrebno je definirati raspodjelu proteaza po debljini stijenke. S obzirom da je potrebno samo kvazi-statičko rješenje difuzijske jednadžbe s dva izvora, pojednostavili smo problem na rješavanje prvog Fickovog zakona:

$$\frac{\partial M^{elas}}{\partial t} = \nabla \cdot [D \nabla M^{elas}] \quad (13)$$

koristeći dostupne eksperimentalne podatke o radijalnoj distribuciji iz [3, 5]. Rubni uvjeti su definirani kao raspoloživa količina elastaza/kolagenaza u luminalnom sloju, odnosno u adventiciji. Unutar tromba postoji $K_N^{elas} M_{tot}^N$ elastaza (i $K_N^{MMP} M_{tot}^N$ kolagenaza), gdje je M_{tot}^N ukupna količina leukocita (neutrofila, engl. PMNs), a K_N^{elas} faktor koji opisuje koliko elastaza se proizvodi po jedinici leukocita u vremenskom koraku. Te proteaze se nalaze na radijusu r_L , definiranom na sličan način kao težište:

$$r_L(s) = \frac{1}{M_{tot}^N(s)} \sum_i M_i^N(s) r_i(s). \quad (14)$$

Broj leukocita u svakom sloju tromba označavamo s M_i^N . Količina proteaza na vanjskom radijusu ovisi o površini vaze *vasorum* A_{tot}^{VV} i ukupnoj količini upalnih stanica u stijenci M_{tot}^{WBC} :

$$M^k(r, s) = \frac{K_N^k M_{tot}^N(s) - K_{WBC}^k M_{tot}^{WBC}(s) - K_{VV}^k A_{tot}^{VV}(s)}{\ln(r_L(s) / r_o)} \ln\left(\frac{r(s)}{r_o}\right) + K_N^k M_{tot}^N(s), \quad (15)$$

gdje k mogu biti elastaze ili kolagenaze.

Nakon što smo odredili radijalnu raspodjelu proteaza, možemo definirati funkcije uklanjanja. Primjerice za elastin:

$$q_i^e(s - \tau) = \exp\left(-\int_{\tau}^s (k_q^e + w_{q,elas}^e M^{elas}(r, \tau)) d\tau\right), \quad (16)$$

gdje je k_q^e parametar brzine uklanjanja mase elastina uslijed polu-života od 40 godina, a $w_{q,elas}^e$ težinski faktor.

Uz utjecaj tromba na stijenku modelirana je i apoptoza (odumiranje glatkih mišićnih stanica sa elastinom) i smanjenje maksimalne kontraktilnosti mišićnih stanica.

2.3 Matfeap

Matfeap je sučelje koje omogućuje povezivanje MATLAB-a i FEAP-a te izmjenu podataka između ta dva programa. Dio programskog koda se računa u FEAP-u, a dio u MATLAB-u. Matfeap omogućuje komunikaciju između ta dva programa. U ovom slučaju se u MATLAB-u računa distribucija proteaza kroz stijenku povećana uslijed taloženja proteolitički aktivnog tromba te se ti podaci vraćaju FEAP-u koji pomoću njih računana mase kolagena i elastina.

Tri osnovne funkcije Matfeapa su *feapcmd*, *feapgetm* i *feapsetm*. *Feapcmd* služi za zadavanje naredbi FEAP-u iz MATLAB-a, *feapgetm* učitava podatke iz FEAP-a, dok ih *feapsetm* vraća iz MATLAB-a nazad FEAP-u.

3 REZULTATI

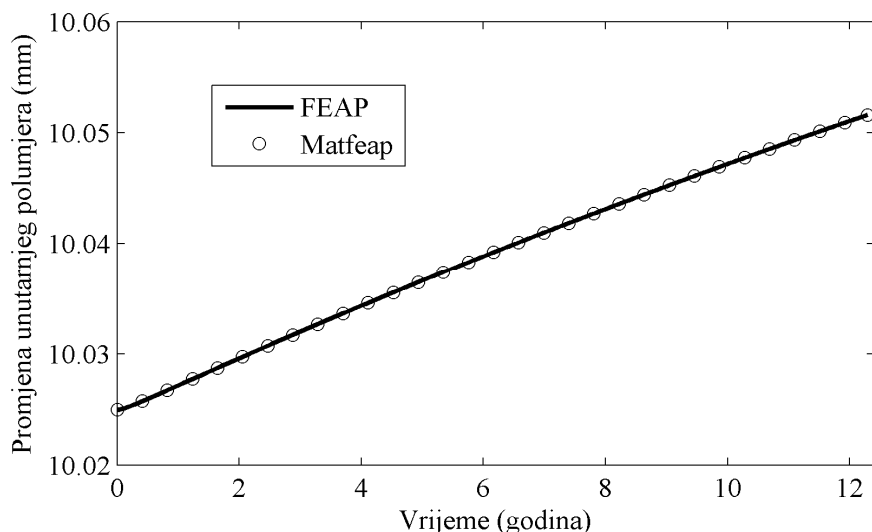
Cilj rada je izračunati vremensko-prostornu promjenjivu distribuciju proteaza (elastaza $M^{elas}(r, \tau)$ i kolagenaza $M^{MMP}(r, \tau)$), odnosno jednadžbu (15). Prije implementacije složenog modela potrebno je verificirati povezivanje programa. Za primjer verifikacije odabran je problem starenja. Tijekom starenja dolazi da postupene ireverzibilne razgradnje elastina. Promjena strukture uzrokuje širenje aorte.

Slika 1 pokazuje usporedbu promjene geometrije tijekom starenja pri kojem funkcija uklanjanja, koja se računa prema jednadžbi (16), poprima oblik

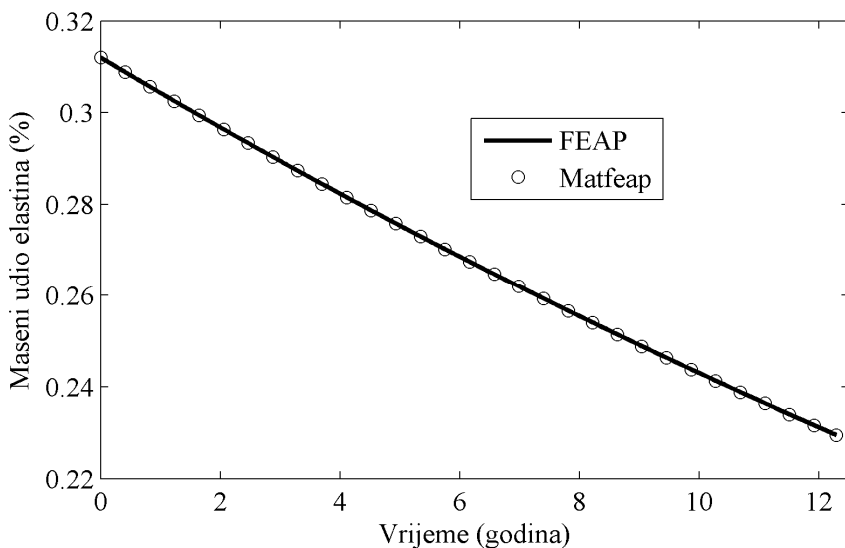
$$q_i^e(s - \tau) = \exp\left(-\int_{\tau}^s \frac{\ln 2}{\tau_{1/2}^e} d\tau\right). \text{ Polu-život elastina } \tau_{1/2}^e \text{ iznosi 40 godina. Puna linija na}$$

slici označava rezultate dobivene korištenjem samo FEAP-a, dok su kružići rezultati dobiveni računanjem mase elastina u MATLAB-u, te prenošenjem izračunatih podataka nazad u FEAP. Slično, Slika 2 pokazuje usporedbu promjene mase elastina

izračunatih na dva načina. Rezultati se potpuno poklapaju, ali korištenje Matfeapa znatno usporava računanje.



Sl. 1. Promjena unutarnjeg radijusa tijekom starenja dobivenih korištenjem samo FEAP-a i povezivanjem FEAP-a i MATLAB-a



Sl. 2. Promjena mase elastina dobivenih korištenjem FEAP-a i Matfeapa

Literatura

- [1] Darling, R.C., Messina, C.R., Brewster, D.C., Ottinger, L.W., Autopsy study of unoperated abdominal aortic aneurysms. The case for early resection, *Circulation*, Vol 56, No. 3-Supplement, 1977, pp. II161–164.
- [2] Federico, S., Volumetric-Distortional Decomposition of Deformation and Elasticity Tensor, *Mathematics and Mechanics of Solids*, Vol. 15, No. 6, 2009, pp. 672–690.
- [3] Fontaine, V., Touat, Z., Mtairag, E.M., Vranckx, R., Louedec, L., Houard, X., Michel, J.-

- B., Role of leukocyte elastase in preventing cellular re-colonization of the mural thrombus, *The American Journal of Pathology*, Vol. 164, No. 6, 2004, 2077–87.
- [4] Holmes, D.R., Liao, S., Parks, W.C., Thompson, R.W., Medial neovascularization in abdominal aortic aneurysms: a histopathologic marker of aneurysmal degeneration with pathophysiologic implications, *Journal of Vascular Surgery*, Vol. 21, No. 5, 1995, pp. 761–772.
- [5] Houard, X., Touat, Z., Ollivier, V., Louedec, L., Philippe, M., Sebbag, U., Michel, J.-B., Mediators of neutrophil recruitment in human abdominal aortic aneurysms, *Cardiovascular Research*, Vol. 82, No. 3, 2009, pp. 532–541.
- [6] Humphrey, J.D., Rajagopal, K.R., A constrained mixture model for growth and remodeling of soft tissues, *Mathematical Models and Methods in Applied Sciences*, Vol. 12, No. 3, 2002, pp. 407–430.
- [7] Inzoli, F., Boschetti, F., Zappa, M., Longo, T., Fumero, R., Biomechanical factors in abdominal aortic aneurysm rupture, *European Journal of Vascular Surgery*, Vol. 7, No. 6, 1993, pp. 667–674.
- [8] Karšaj, I., Humphrey, J.D., A multilayered wall model of arterial growth and remodeling, *Mechanics of Materials*, Vol 44, 2012, pp. 110–119.
- [9] Karšaj, I., Sorić, J., Humphrey, J.D., A 3-D framework for arterial growth and remodeling in response to altered hemodynamics, *International Journal of Engineering Science*, Vol 48, No. 11, 2011, pp. 1357–1372.
- [10] Mäyränpää, M.I., Trosien, J.A., Fontaine, V., Folkesson, M., Kazi, M., Eriksson, P., Hedin, U., Mast cells associate with neovessels in the media and adventitia of abdominal aortic aneurysms, *Journal of Vascular Surgery*, Vol. 50, No. 2, 2009, pp. 388–396.
- [11] Sansour, C., On the physical assumptions underlying the volumetric-isochoric split and the case of anisotropy, *European Journal of Mechanics - A/Solids*, Vol. 27, No. 1, 2008, pp. 28–39.
- [12] Simão da Silva, E., Rodrigues, A.J., Magalhães Castro de Tolosa, E., Rodrigues, C.J., Villas Boas do Prado, G., Nakamoto, J.C., Morphology and diameter of infrarenal aortic aneurysms: a prospective autopsy study, *Cardiovascular Surgery*, Vol. 8, No. 7, 2000, pp. 526–532.
- [13] Tong, J., Cohnert, T., Regitnig, P., Holzapfel, G.A., Effects of age on the elastic properties of the intraluminal thrombus and the thrombus-covered wall in abdominal aortic aneurysms: biaxial extension behaviour and material modelling, *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, Vol. 42, No. 2, 2011, pp. 207–219.
- [14] Vande Geest, J.P., Sacks, M.S., Vorp, D.A., The effects of aneurysm on the biaxial mechanical behavior of human abdominal aorta, *Journal of Biomechanics*, Vol. 39, No. 7, 2006, pp. 1324–1334.

Autori:

Lana Virag, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Ivana Lučića 5, HR-10000 Zagreb, tel. 01/616-8490, e-mail: lane.virag@fsb.hr, web stranica: <https://www.fsb.unizg.hr/inm/staff/virag>

Boris Righi, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Ivana Lučića 5, HR-10000 Zagreb, e-mail: borisrighi@gmail.com

Nino Horvat, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Ivana Lučića 5, HR-10000 Zagreb, tel. 01/616-8490, e-mail: nino.horvat@stud.fsb.hr

Igor Karšaj, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Ivana Lučića 5, HR-10000 Zagreb, tel. 01/616-8125, e-mail: igor.karsaj@fsb.hr, web stranica: <https://www.fsb.unizg.hr/inm/staff/karsaj>